



# **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado

## **Detección de E8SJM, mutación más frecuente para la enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol (CESD), en explantes de hígado de pacientes sometidos a trasplante hepático en el Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)-Brasil**

### **TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Bioquímica

### **AUTOR**

Diana Elizabeth ROJAS MÁLAGA

### **ASESOR**

Doris Virginia HUERTA CANALES DE MIRANDA

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Rojas D. Detección de E8SJM, mutación más frecuente para la enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol (CESD), en explantes de hígado de pacientes sometidos a trasplante hepático en el Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)-Brasil. [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2018.

---



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado  
Sección Maestría




16-S/N

68-

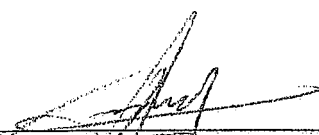
### ACTA DE GRADO DE MAGISTER


En la ciudad de Lima, a los 09 días del mes de abril del año dos mil dieciocho siendo la 09:00 am, bajo la presidencia del Dr. Mario Monteghirfo Gomero con la asistencia de los Profesores: Mg. José Enrique Olivera García (Miembro), Mg. Marlene Vargas Chávez (Miembro), Mg. Luis Clever Arias Caycho (Miembro) y la Dra. Doris Virginia Huerta Canales (Asesora); la postulante al Grado de Magister en Bioquímica, Bachiller en Genética y Biotecnología, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su tesis Titulada: **"DETECCIÓN DE ESSJM, MUTACIÓN MÁS FRECUENTE PARA LA ENFERMEDAD POR ALMACENAMIENTO DE ÉSTERES DE COLESTEROL(CESD), EN EXPLANTES DE HÍGADO DE PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE HEPÁTICO EN EL HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE (HCPA) - BRASIL"** con el fin de optar el Grado Académico de Magister en Bioquímica. Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, habiendo obtenido la siguiente calificación **A EXCELENTE 20**. A continuación el Presidente del Jurado recomienda a la Facultad de Medicina se le otorgue el Grado Académico de **MAGÍSTER EN BIOQUÍMICA** a la postulante **DIANA ELIZABETH ROJAS MÁLAGA**.

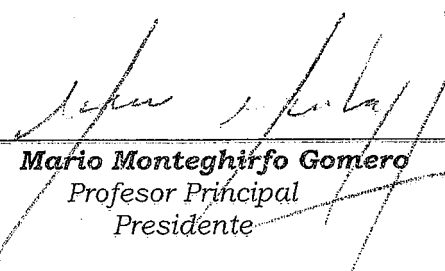
Se extiende la presente Acta en tres originales y siendo las 10:35 am, se da por concluido el acto académico de sustentación.

  
**Mg. José Enrique Olivera García**  
Profesor Asociado  
Miembro

  
**Mg. Marlene Vargas Chávez**  
Profesor Auxiliar  
Miembro

  
**Mg. Luis Clever Arias Caycho**  
Profesor Asociado  
Miembro

  
**Dra. Doris Virginia Huerta Canales**  
Profesora Principal  
Asesora

  
**Dr. Mario Monteghirfo Gomero**  
Profesor Principal  
Presidente

## Resumen

La enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol (CESD, *Cholesteryl ester storage disease*) es una enfermedad metabólica rara causada por la deficiencia de la actividad de la enzima lipasa ácida lisosomal, ocasionando la acumulación de ésteres de colesterol, particularmente en el hígado. Su presentación es bastante variable y su diagnóstico es un reto, cuando no es tratada a tiempo puede llevar a cirrosis, insuficiencia hepática y muerte. Además, existe un número de anomalías observadas en los pacientes con CESD que se sobreponen a diagnósticos más comunes, siendo probable que esté siendo subdiagnosticada. La mayoría de pacientes relatados hasta el momento, 60%, son portadores de la mutación E8SJM en el gen *LIPA*. El objetivo de la presente investigación fue detectar la variante patogénica E8SJM en los explantes de hígado de los pacientes sometidos a trasplante en el Hospital de Clínicas (HCPA) con diagnóstico clínico de esteatohepatitis no alcohólica y cirrosis criptogénica. De esta manera comprobaríamos si la CESD está siendo sub-diagnosticada y categorizada como otra enfermedad hepática entre los pacientes sometidos a trasplante. Se trabajó con muestras parafinadas de explantes de hígado. De manera paralela también fue detectada en un banco de controles de amplificación, así como en pacientes con sospecha de CESD con ingreso al Servicio de Genética Médica del HCPA para análisis molecular del gen *LIPA*. La mutación E8SJM fue detectada por PCR en tiempo real utilizando una sonda personalizada, previa estandarización de todos los métodos. La mutación fue detectada en una paciente que ingresó vía redes de apoyo al diagnóstico de errores innatos del metabolismo con sospecha de DLAL. Este resultado fue confirmado por secuenciación por el método de Sanger y el genotipo fue establecido por secuenciación de nueva generación utilizando la plataforma Ion Torrent Personal Genome Machine®.

**Palabras-clave:** Deficiencia de lipasa ácida, *CESD*, E8SJM.

## Abstract

Cholesterol ester storage disease (CESD) is a lysosomal disease caused by deficient activity of the lysosomal acid lipase enzyme, leading to the accumulation of cholesterol esters, particularly in the liver. Its presentation is variable and the diagnosis challenging; when not treated on time can lead to cirrhosis, liver failure and death. In addition, there are several clinical manifestations observed in patients with CESD who overlap with more common diagnoses, and is likely that many patients are unrecognized or misdiagnosed. Up to date, 60% of the CESD patients are carriers of the E8SJM mutation in *LIPA* gene. The objective of the present thesis was to detect the pathogenic variant E8SJM in the liver explants of patients undergoing transplantation at Hospital de Clinicas (HCPA) with clinical diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis and cryptogenic cirrhosis. In this way we verify if the CESD is being under-diagnosed and categorized as another liver disease among the patients undergoing transplantation. We used paraffin samples of liver explants. In parallel it was also analyzed the mutation in a bank of amplification controls, as well as in patients with suspected CESD with admission to the HCPA Medical Genetics Service for molecular analysis of the *LIPA* gene. The E8SJM mutation was detected by real-time PCR using a custom probe, after standardization of all methods. The mutation was only detected in a patient who entered via support networks to diagnose inborn errors of metabolism with suspected DLAL. This result was confirmed by sequencing by the Sanger method and the genotype was established by next-generation sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine® platform.

**Key words:** Deficiency of acid lipase, CESD, E8SJM.